ATTO Preparative Electrophoresis System

分取用電気泳動装置

AE-6760

ネイティブン

NATIVEN®

電気泳動と50年

Since 1964

ATTO

Made in Tokyo

SupportingLifeResearch

AE-6760 NATIVEN®とは？

AE-6760 NATIVEN® は『文部科学省知的クラスター創世事業 さっぽろバイオクラスター “Bio-S” プロジェクト』において開発され、2009 年 9 月より新たに発売した製品です。

NATIVEN® はポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE, polyacrylamide gel electrophoresis）により、目的のタンパク質や核酸を分離し、回収溶液中に溶出させた後、フラクションコレクターに溶液として自動で分取する装置です。

フラクションコレクターへの分画は、溶液の移送を空気で行うため、目的成分を希釈することなく回収できます。またPAGE の濃縮作用を利用し、ロート状のゲルを用いて、濃度の薄い体液や細胞抽出液を濃縮することも可能です。抗体作成やスクリーニングといった様々な研究分野で用いることができます。

AE-6760 型　NATIVEN®（ネイティブン）

NATIVEN®の特長

□ 目的の成分を溶液として自動で回収できる！

□ ポリアクリルアミドゲル電気泳動の高い分離能で分画できる！

□ SDS-PAGE, Native-PAGE いずれの条件でも分画可能！

□ ゲルから溶出された成分は希釈されない！

□ 濃度の薄いサンプルを濃縮することが可能！

□ 分離条件や温度条件を自由に変更できる！

□ 低分子～高分子量まで幅広い分子量に対応した分取実績がある！

NATIVEN®の用途

◇ PAGE を利用したタンパク質の分画・分取
　・SDS-PAGE によるタンパク質の分取
　・Native-PAGE による活性タンパク質の分取
◇ 濃度の薄い体液や細胞抽出液の濃縮
◇ 抗体作成、エピトープの精製
◇ スクリーニング・物質検索
◇ 質量分析の前処理
◇ DNA の分取　　　　　　　　　　etc.

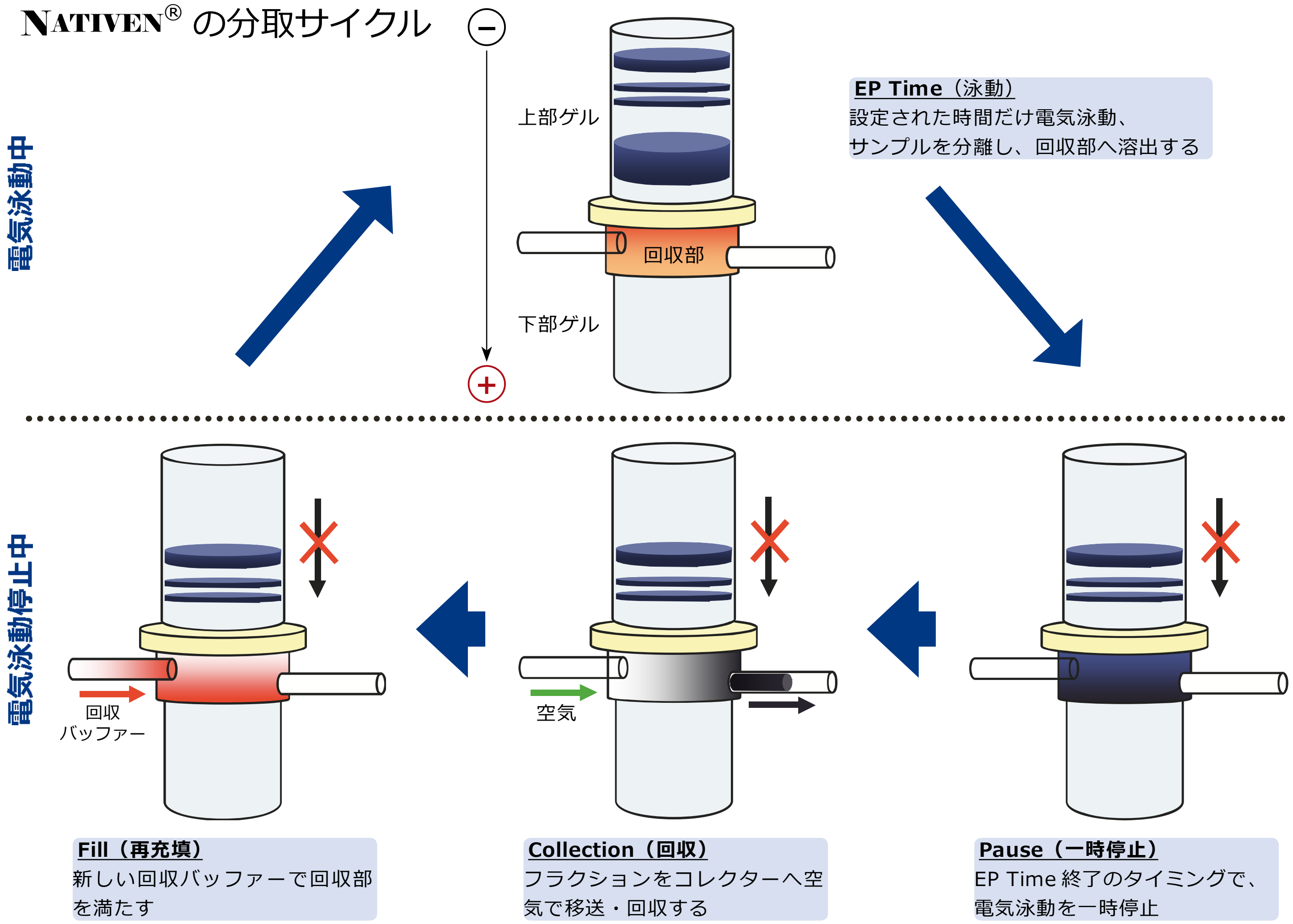
NATIVEN®の原理「断続 - 空気置換送液方式」とは

NATIVEN® の分取には、「断続 - 空気置換送液方式」が採用されています。泳動サンプルはまず NATIVEN® 泳動ゲルの上部ゲルで、分子ふるい効果によって分離されます。分離されたサンプルの成分は上部ゲルの下端から溶出し、回収部（上部 - 下部ゲルに挟まれ回収溶液に満たされた空間）に到達します。その後、電気泳動を一時停止させることで、回収バッファーにはそれまでに分離・溶出された成分だけが含まれることになります。

NATIVEN® 最大の特徴は、サンプルの成分が溶出した回収部内のバッファーを、フラクションコレクターへ送るのに空気を用いることです。回収用ポンプから空気を送り、回収バッファーの前後を空気でサンドイッチしてフラクションコレクターまで送ります。この空気による移送では、溶出成分の希釈が起こらないというメリットがあります。

一度空気に置換された回収部は、充填用ポンプで再度回収バッファーが充填されます。その後電気泳動を再開し、分離・溶出というサイクルを繰り返すことで、サンプル中の成分を分取していきます。

NATIVEN® の分取サイクル



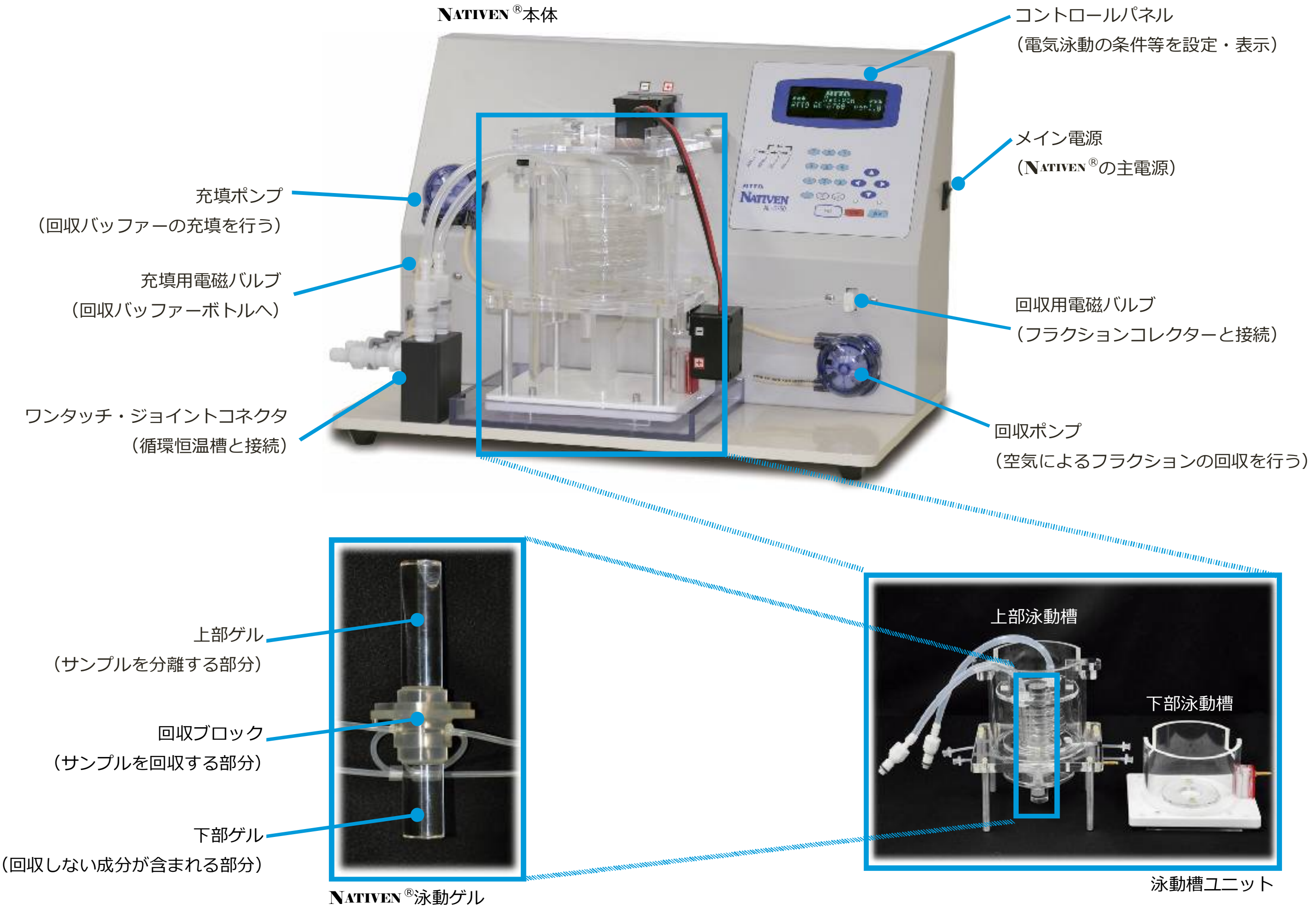
断続 - 空気置換方式の実績

標的となる分子量	低分子量	中域の分子量	高分子量
検証例	29	90	20
分子量の平均	12.6kDa (3-20kDa)	51.2kDa (20-100kDa)	158.9kDa (100-230kDa)
使用したゲル濃度の平均	16.40% (12.5-20.0%)	10.35% (7.5-12.5%)	7.13% (5.0-7.5%)

Reference

1. Separation and structural analysis of lipoprotein in a lipopolysaccharide preparation from Porphyromonas gingivalis.
Hashimoto M et al., Int Immunol. 2004 Oct;16(10):1431-7. DOI: 10.1093/intimm/dxh146
2. Saccharomyces cerevisiae Rot1p Is an ER-Localized Membrane Protein That May Function with BiP/Kar2p in Protein Folding.
Takeuchi M et al., J Biochem. 2006 Mar;139(3): 597-605 DOI: 10.1093/jb/mvj063
3. Synthesis of glycopeptide dendrimer by a convergent method
Ozawa C et al., Tetrahedron 2007 Jul;63(39):9685?9690 DOI: 10.1016/j.tet.2007.07.023

NATIVEN®の構造と各部機能

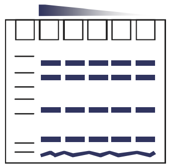


・NATIVEN® 泳動ゲルは上部・下部ゲルと、回収ブロックという３つのパーツで形成されます
・目的のサンプルは電気泳動で上部ゲル内を移動する際、分子ふるい効果で分離されます

NATIVEN®を用いる分取実験の流れ

NATIVEN® を用いた分取は大きく分けて５つの行程が必要となります

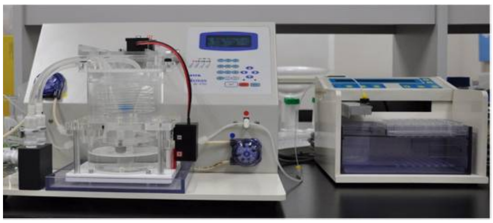
1. サンプル調整



2. 予備電気泳動

3. NATIVEN®組立

4. プログラム設定



5. 泳動・分取

データ 01. PAGE を利用した分離能の高い分取ができる

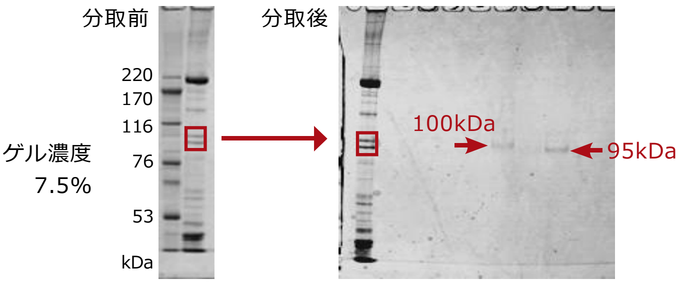
PAGE を利用して、わずか数 kDa の違いも分取可能です

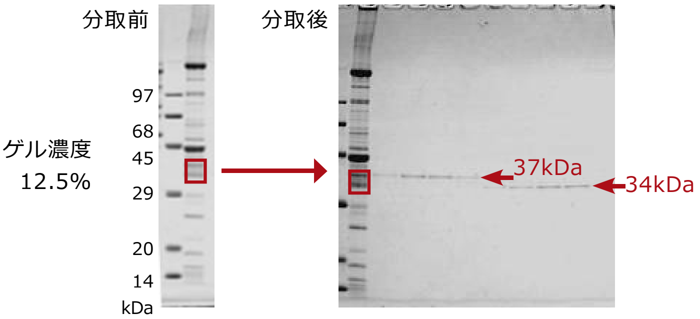
NATIVEN® は 3 つのパラメータを変化させることで、
分取・分離の精度を調節することができます

1. ゲルの長さ　短い … 電気泳動中の分離能が低くなる
　　　　　　　長い … 電気泳動中の分離能が高くなる

2. ゲル濃度　濃い … 分子量の小さなタンパク質を分離しやすくなる
　　　　　　　薄い … 分子量の大きなタンパク質を分離しやすくなる

3. EP Time　短い … 細かく分取するようになる
　　　　　　長い … 大まかに分取するようになる



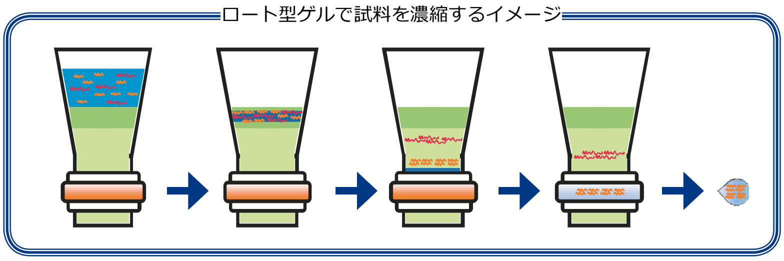


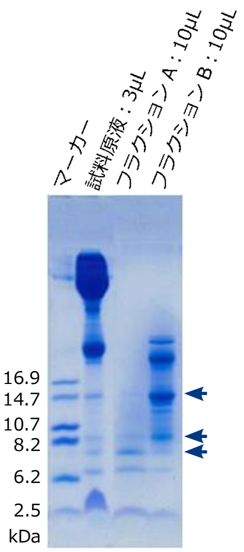
データ 02. 特定の成分を濃縮して分取できる

L 型 ロートカラム

NATIVEN® ではロート状ガラス管を利用し、ロート状のゲルを作成できます。この形状のゲルを用いることで、サンプル溶液を大量に電気泳動できます。このロート状のゲルと、「空気で試料を送るため、希釈することなくフラクションを取り出せる」という NATIVEN® の特長を利用して、原液のままでは濃度の薄い成分を濃縮して取り出すことが可能です。

例えばサンプル溶液:4mL 分を電気泳動し、各フラクション: 1 mL ずつ分取した場合、フラクションに含まれる成分は 4 倍に濃縮したことになります（下図）。

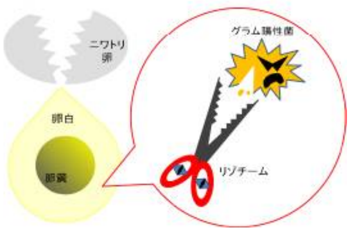




→ NATIVEN® による分取で、フラクション A, B から試料（ウシ血清）の主要成分である
グロブリン・アルブミンを除くことに成功しました

→ やじりが示すバンドについては、フラクション A, B において、試料原液より濃い濃度で
回収することができました。

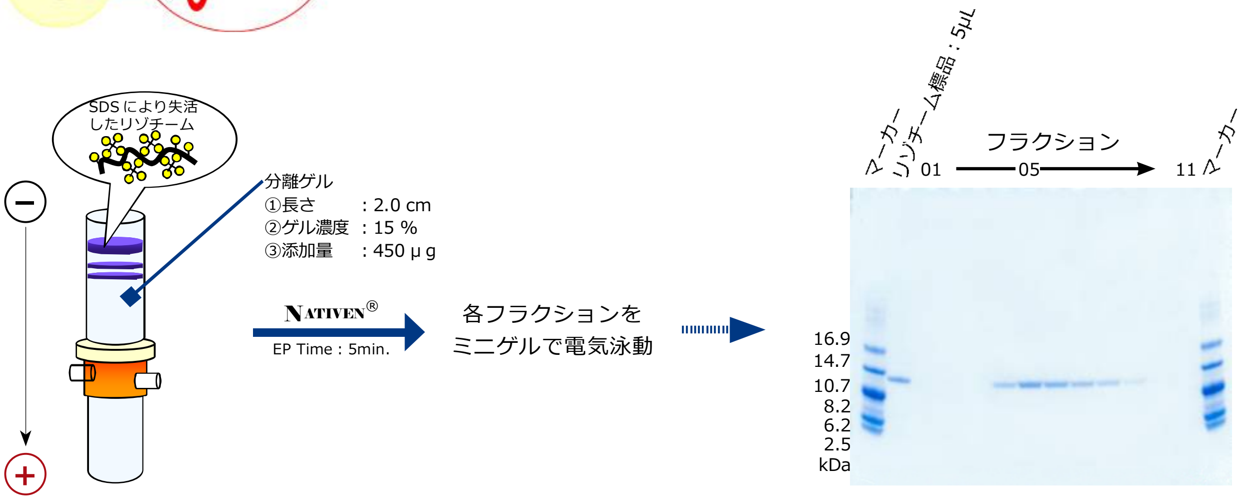
データ 03. SDS-PAGE で分取後、酵素活性を回復させる



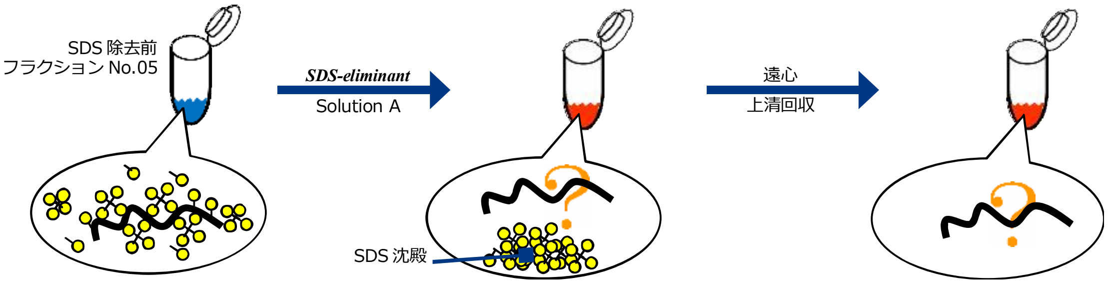
リゾチームとは？

リゾチームはニワトリの卵白に多く含まれる酵素です。リゾチームは細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカン層に作用し加水分解します。

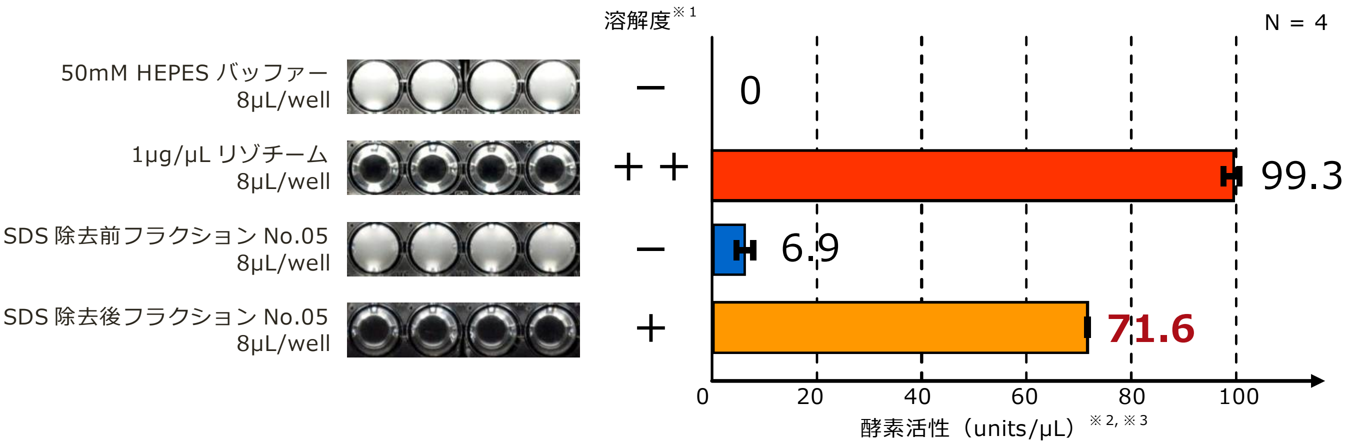
細胞壁がペプチドグリカン層のみで構成されるグラム陽性菌にリゾチームが作用すると、グラム陽性菌は溶菌します。



リゾチームが最も多く溶出したフラクション No.05 を SDS 除去試薬「AE-1390 ***SDS-eliminant***」(次ページ参照）で SDS を除去した後、酵素活性を測定しました。



グラム陽性菌 *Micrococcus lysodeikticus* を用いて、リゾチームの酵素活性を測定すると…



※1 *Micrococcus lysodeikticus* 懸濁液は溶菌すると透明になり、吸光度 A450 が減少する
※2 リゾチーム 1unit　「1 分間あたりに Micrococcus lysodeikticus 懸濁液の吸光度 A450 が 0.001 減少する」と定義
※3「リゾチーム添加する前」から「リゾチーム添加して 1 分後」の A450 の差から unit 数を計算

SDS を除去することで、フラクション No. 05 の酵素活性を除去前の約 12 倍にまで増加させることができました

SDS 除去試薬　AE-1390 ***SDS-eliminant***

エスディーエス エリミナント

●用途

○ 試料溶液中の SDS の除去
○ SDS-PAGE 後のタンパク質溶液からの SDS 除去※1
○ SDS で変性させたタンパク質等における活性回復※2
○ 細胞や組織の抽出溶液からの SDS 除去
○ MS や電気泳動、クロマトグラフィー等の前処理
○ タンパク質など、目的成分の単離・精製　　　　etc.

※1 全ての SDS を完全に除去することはできません
※2 SDS による変性の度合は各タンパク毎に異なります

■特長

□ 試料溶液中に加えるだけで OK
□ 短時間で 95% 以上の SDS を除去できる
□ SDS 除去にともなう試料 (タンパク質) のロスが少ない
□ 少容量 (1mL 以下) の試料に使用可能

価格

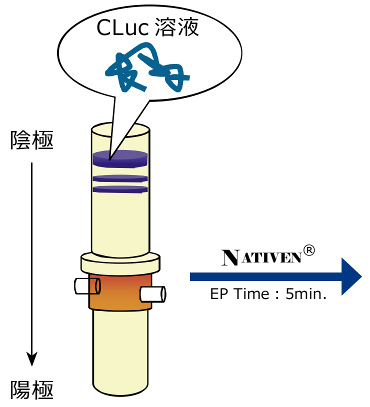
¥14,000 ／ 1 セット

◆仕様

構成品形態	Sol. A：溶液 2mL ／チューブ 1 本
	Sol. B：溶液 2mL ／チューブ 1 本
主成分	Sol. A：KCl, Tris
	Sol. B：非イオン界面活性剤 , Tris
使用量	Sol. A：試料溶液約 40mL 分
	Sol. B：試料溶液約 10mL 分
保　存	遮光・冷蔵　1 年

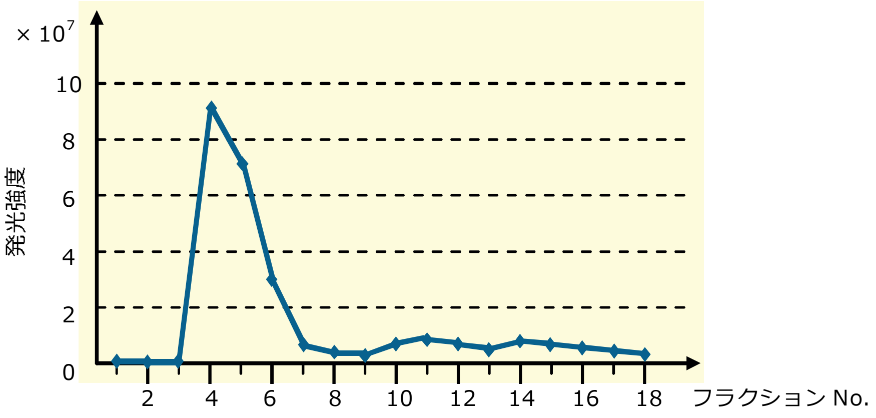
データ 04. Native-PAGE で活性を維持して分取する

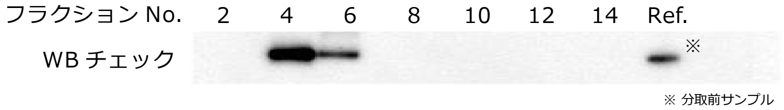
分泌タンパク質であるウミホタル由来のルシフェラーゼ（*Cypridina* Luciferase, CLuc）を酵母で発現させ、培地に含まれる成分をサンプルとして Native-PAGE で分取しました。各フラクションは発光強度による活性測定とウエスタンブロッティング - 抗 CLuc 抗体による検出を行いました。



① 各フラクションの発光強度を
　ルミノメーターでチェック

② 発光強度の値が高いフラクションを
　WesternBlot で確認





※ 分取前サンプル

・立体構造・活性を維持した状態でのタンパク質の分取・分画
・転写因子と核酸との相互作用解析　　　　　　　　などに利用できます。

データ 05. 質量分析用のサンプル調製ができる

NATIVEN® で血漿に含まれる低分子グループの濃縮・分取を行いました（データ 02 参照）。主要成分であるアルブミン、グロブリン等と分離した状態で低分子成分を濃縮・回収し、質量分析（Mass Spectrometry, MS）用のサンプルを調製することができました。

①NATIVEN®(SDS-PAGE, 非還元処理)

↓ 血漿の主要成分であるアルブミン、グロブリンを低分子領域と分離

②簡易 Native-PAGE

↓ 試料中の SDS を除去

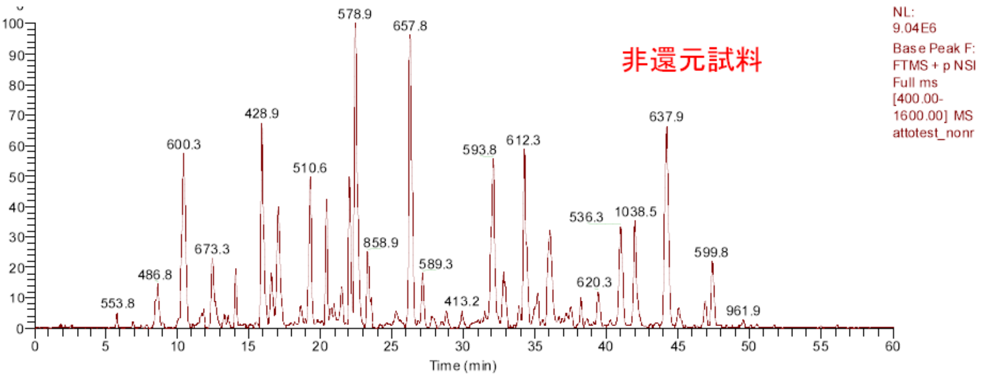
③バンド切り出し

↓

④ in gel digestion

↓

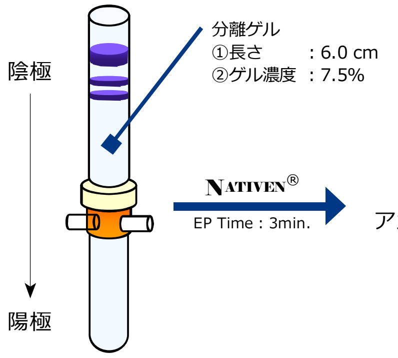
⑤質量分析



主要成分の断片等のコンタミネーションはほとんど見られず、
目的の低分子成分の解析をおこなうことができました

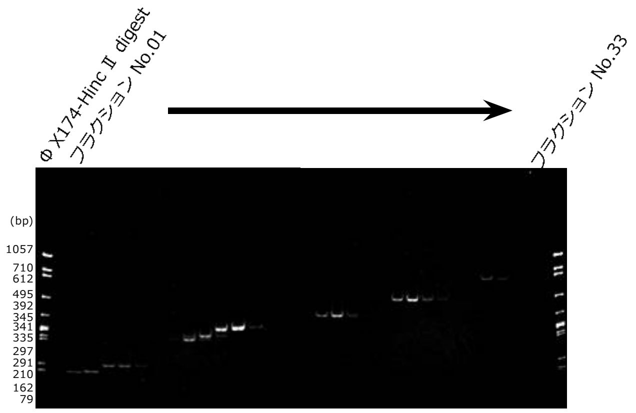
データ 06. DNA の分取ができる

バクテリオファージΦ X174 の制限酵素 Hinc Ⅱ消化物で調製した DNA 断片をサンプルとし NATIVEN® による分取を実施、各断片を分取しました。



NATIVEN®
EP Time：3min.

各フラクションを
アガロースゲルで電気泳動



※ NATIVEN® ではアガロースゲルでの分取はできません

仕様

名称	NATIVEN® S	NATIVEN® L
呼称	ネイティブン® エス	ネイティブン® エル
型式	AE-6760S	AE-6760L
試料添加量（ストレート管）	最大量：0.5mL	最大量：2.0mL
試料総量（ストレート管）	最大量：0.33mg	最大量：2.0mg
試料総量（ロート管）	最大量：1.5mg	最大量：50mg
回収液量	150μL	800 ～ 1000μL
ガラス管の高さ	80mm	
分画時間	1 ～ 99 分（1min. ステップ）	
回収方式	断続 - 空気置換送液法	
支持体／ゲル濃度	ポリアクリルアミドゲル 6.0 ～ 16% 均一ゲル	
ゲル断面積	ストレート型：33mm^2 ロート型：200mm^2(上端)	ストレート型：200mm^2 ロート型：1000mm^2(上端)
上部ガラス管の直径	ストレート型：7.5mm ロート型 : 7.5 ～ 17mm（下部～上部 ）	ストレート型：16mm ロート型：16 ～ 37mm（下部～上部 ）
泳動バッファーの容量	上部：240mL 下部：100 ～ 300mL	上部：500mL 下部：100 ～ 300mL
電源出力	電流設定：定電流　1 ～ 40 mA (15 ステップ) エラー検出機能 (オープン ／ ショート)	
泳動部の材質	本体：アクリル ガラス管：硬質ガラス 送液チューブ：シリコン , ファーメド® ゲル作製器：軟質ガラス , シリコンゴム	
フラクションコレクター出力信号	MAKE 接点／オープンコレクター 400ms (ステップ信号)	
表示	蛍光 LED パネル　4 行× 20 文字 ／ LED ランプ表示	
条件設定入力	●分取条件（以下①～⑥で構成）を 4 つまで保存可能 ① 電流値：1 ～ 40 mA (15 ステップ), 定電力出力 ② 泳動開始から分画開始までの泳動時間 (delay time) : 1 ～ 999 分 ③ 分画サイクル中の泳動通電時間 (run time) : 1 ～ 99 分 ④ 回収ポンプ作動時間（collection time）: 1 ～ 255 秒 ⑤ 回収溶液充填時間（fill time）: 1 ～ 255 秒 ⑥ 分画数（max fraction）: 1 ～ 999	
使用温度範囲／バッファー恒温化方式	5 ～ 65℃／ガラス製熱交換器	
電源	AC 100V, 50/60 Hz, 45VA	
寸法	幅 400 mm × 奥行 250 mm × 高さ 200 mm　約 2kg	
構成	NATIVEN® 本体 × 1 台 , 電源出力リード線 × 1 本 , 配管チューブ＆コネクタ × 1 式 , 取扱説明書 × 1 冊	
	泳動槽部 S 型 泳動槽（S 型用 上部泳動槽 , 下部泳動槽）× 1 台 S 型 回収部ブロック × 1 個 S 型 冷却管（ワンタッチコネクタ付き）× 1 個 ガラス管 S 型 ガラス管（ストレート／ロート／下部 カラム）× 1 式 ゲル作製器 S 型 ゲル作製器 × 1 式	泳動槽部 L 型 泳動槽（S 型用 上部泳動槽 , 下部泳動槽）× 1 台 L 型 回収部ブロック × 1 個 L 型 冷却管（ワンタッチコネクタ付き）× 1 個 ガラス管 L 型 ガラス管（ストレート／ロート／下部 カラム）× 1 式 ゲル作製器 L 型 ゲル作製器 × 1 式

ATTO Preparative Electrophoresis System

AE-6760 型 NATIVEN®

AE-1650 型
スーパースタットミニ PID

AC-5700P 型
マイクロコレクター

NATIVEN® は、泳動バッファーを恒温化する為の恒温循環槽、回収溶液を分取するフラクションコレクターと接続して使用します。
これらの機器を揃えたシステムをご紹介します。

	NATIVEN®S システム	NATIVEN®L システム
型式	AEP-560	AEP-562
コード No.	2400551	2400571
数量	一式	一式
構成	NATIVEN®S スーパースタットミニ PID マイクロコレクター	NATIVEN®L スーパースタットミニ PID マイクロコレクター
定価	¥1,268,000	¥1,268,000

● AB-1650 型 スーパースタットミニＰＩＤは、外部循環可能な恒温水槽・恒温装置です。-20 ～ 80℃の広い範囲で使用できます。
PID 制御による高い温度精度、ポンプ装備により外部循環も可能です。詳細は別途カタログをご参照ください。

● AC-5700P 型 マイクロコレクターは、マイクロプレート対応の小型フラクションコレクターです。
NATIVEN® と接続して使用する場合は 48 ウェルマイクロプレートの使用を推奨しています。

関連製品

分取泳動装置

AE-6760 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
AE-6760S	2401150	NATIVEN®S	一式	¥520,000
AE-6760L	2401160	NATIVEN®L	一式	¥520,000

循環恒温槽

AB-1650 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
AB-1650	3521215	スーパースタットミニ PID	一式	¥398,000

フラクションコレクター

AE-5700P 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
AC-5700P	1281500	マイクロコレクター	一式	¥350,000

ミニゲル泳動槽

電源一体型電気泳動槽

WSE-1100 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
WSE-1100M	2321640	パジェラン® -R（自作ゲル用）	一式	¥78,000
WSE-1100MW	2321641	パジェラン® -R（作製キット付）	一式	¥94,000

電気泳動槽（別途電源装置が必要）

AE-6530M 型

AE-6530MW 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
AE-6530M	2321900	ラピダス・ミニスラブ®電気泳動槽（自作ゲル用）	一式	¥42,000
AE-6530MW	2321915	ラピダス・ミニスラブ®電気泳動槽（作製キット付）	一式	¥56,000

ゲル作製キット

AE-6401 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
AE-6401	2393010	ミニスラブゲル作製キット 1mm（２組用）	一式	¥16,000

電源装置

AE-8155 型

WSE-3200 型

型式	コード No.	名称	数量	定価
AE-8155	2311185	マイパワーⅡ 500	一式	¥69,000
WSE-3200	2311145	パワーステーションⅢ	一式	¥170,000

Catalog Ver. 1.2　201501

アトー株式会社

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器
開発/生産/販売/サービス

主要製品

●ペリスタポンプ
●クロマトグラフ
●電気泳動分析機器
●DNA分析機器
●画像分析システム
●発光分析装置
●バイオ研究機器
●医療分析装置

■本　社　〒111-0041東京都台東区元浅草3-2-2　☎(03)5827-4861(代表)　FAX(03)5827-6647
◆技術サービス　☎(03)5827-4873(代表)　FAX(03)5827-4874
■技術開発センター　〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6　☎(03)5818-7560(代表)　FAX(03)5818-7563
(東京都許可　医療機器製造業)
■大阪支店　〒530-0044大阪市北区東天満2-8-1 若杉センタービル別館 5F　☎(06)6136-1421(代表)　FAX(06)6356-3625

■URL http://www.atto.co.jp/